

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/002669

International filing date: 15 February 2005 (15.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004/073468
Filing date: 16 February 2004 (16.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 02 June 2005 (02.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 4 年 2 月 1 6 日

出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 0 7 3 4 6 8

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
J P 2 0 0 4 - 0 7 3 4 6 8
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

出 願 人
Applicant(s): 横 山 司 甫

2 0 0 5 年 5 月 2 0 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】	特許願
【整理番号】	60216
【提出日】	平成16年 2月16日
【あて先】	特許庁長官 殿
【国際特許分類】	
【発明者】	
【住所又は居所】	東京都清瀬市中清戸5－7 2－1 1－4
【氏名】	横山 司甫
【特許出願人】	
【識別番号】	598100346
【住所又は居所】	東京都清瀬市中清戸5－7 2－1 1－4
【氏名又は名称】	横山 司甫
【電話番号】	0424-92-2779
【提出物件の目録】	
【物件名】	特許請求の範囲 1
【物件名】	明細書 1
【物件名】	図面 1
【物件名】	要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

ヒト及び／又は動物の腎糸球体中のタイプ I V コラーゲン N C 1 領域又はそのペプチド（以下 N C 1）と免疫反応をする抗 N C 1 モノクローナル抗体

【請求項 2】

ヒト及び／又は動物の腎炎の糸球体中の N C 1 と免疫反応をする抗 N C 1 モノクローナル抗体

【請求項 3】

ヒト及び／又は動物の腎炎の糸球体中の N C 1 と免疫反応をする標識物質で標識した抗 N C 1 モノクローナル抗体

【請求項 4】

請求項 1 の抗 N C 1 モノクローナル抗体を用いた生体試料中の N C 1 検出方法

【請求項 5】

抗 N C 1 抗体を取り除く器具

【請求項 6】

N C 1 を取り除く器具

【請求項 7】

腎臓由来のタイプ I V コラーゲンを抗原として作製した抗タイプ I V コラーゲン抗体によるタイプ I V コラーゲン測定キット

【請求項 8】

抗体作製時やワクチン投与で追加免疫する時、追加免疫の投与量を初回量より多くする投与方法

【請求項 9】

疾患モデル動物で腎炎の指標として生体試料中の抗 N C 1 抗体を用いる方法と試薬

【書類名】 明細書

【発明の名称】 抗NC1モノクローナル抗体

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗NC1モノクローナル抗体を用いる腎炎検出方法及び検出試薬に関する。更に、治療の用具、医薬品を含む。

【背景技術】

【0002】

従来、腎炎検出の主な指標は、尿を試料として、蛋白、アルブミン、タイプIVコラーゲン（三本鎖領域）、 $\beta 2M$ などである。又、従来の腎炎の確定診断法は、腎生検で得た腎切片を染色し、免疫グロブリンの沈着や半月体の形成などを観察することであった。例えば、IgA腎症の診断基準は、確定診断として腎生検が唯一の方法で、具体的には、「びまん性にメサンギウム領域を主体とするIgAの顆粒沈着」を蛍光抗体又は酵素抗体染色で所見するとしている（1071頁「臨床検査2001～2002」文光堂刊）。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

これらは次のような問題点があった。

前者は、それぞれ優れた指標であるが、各種腎炎の進行した状態で見られる糸球体への免疫グロブリンの沈着に対し抗原が何であるか回答するものでは無いので腎炎の本質に迫るものでは無い。

後者の確定診断は、経験豊富な病理専門医の高度な診断技術を求められた。

又、免疫グロブリンの沈着段階では腎炎は時には数十年を経過しており、ジン機能も著しく低下している。それ故、免疫グロブリンの沈着や半月体の形成などの特異的な病理像が見られない早い段階で、極めて簡単に正確に確定診断できることが望まれていた。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本願発明は、以上のような欠点を無くし、腎炎を早期の段階で検出できる方法と試薬、更には血清浄化方法を提供するものである。

これまでに、本願発明者は、腎炎の時に糸球体他に沈着する免疫グロブリンの相手となる抗原はタイプIVコラーゲンのNC1領域である事を見出だした。実際、抗GBM抗体腎炎に限らず各種の腎炎で、免疫反応により血清や尿中に抗NC1抗体が存在する事を示した。

そこで、本願発明者は、ウシ腎糸球体より分離精製した抗原NC1をマウスに感作して抗NC1モノクローナル抗体を作製し、ウエスタンブロット法や免疫染色に適合し得る「抗NC1モノクローナル抗体」及び「標識抗NC1モノクローナル抗体」を、又、「抗NC1モノクローナル抗体」を組み入れた「サンドイッチ法によるNC1測定ELISAキット」を完成させた。

【0005】

その手順は次の通りである。

1【抗原の分離精製】ウシ腎糸球体を原料として、タイプIVコラーゲンNC1領域（以下NC1）を分離し、カラムクロマトグラフィーで分離精製する（J. Biol. Chem., 263, 10481-8）。

2【抗NC1モノクローナル抗体の作製と選択】モノクローナル抗体は定法によりマウスを用いて作製する（単クローン抗体実験マニュアル、講談社刊、1987）。

融合細胞のスクリーニングではELISA法で抗体価の高い陽性穴を多数選び、次にウエスタンブロット法でNC1モノマー及び／又はNC1ダイマーに反応する抗体を選ぶ。続いて免疫染色を行い、サル抗糸球体基底膜（GBM）抗体腎炎の糸球体と反応するものを選ぶ。更に、サル正常腎と反応しないものを選ぶ。このようにしてELISA法でも、ウ

エスタンブロット法でも、免疫染色でも可能な抗NC1モノクローナル抗体が得られる。もちろん、抗NC1モノクローナル抗体としては、ELISA、ウエスタンブロット、免疫染色、癌細胞の増殖抑制、その他の用途の一つだけしか機能を有しないものでも、複数機能するものでも良いが、全てに機能するものが望ましい。又免疫染色では、ウサギ他から作製したポリクローナル抗体の如く正常の腎臓にも反応するものでも良いが、腎炎との識別はできない。組織の存在確認には使える。

ここで作製したカニクイサルの腎炎モデルは、従来報告されている足裏投与と異なり、背部に初回NC1を1mg、追加免疫3mgで作製している。背部への投与は足裏に打つのに比べ、サルの歩行に困難を与えず、二足歩行に伴う感染の可能性も低い。又、同じ量を背部に投与する場合、1回のみ4mg投与するよりも、初回量と追加免疫量を同じか追加を少量にするよりも、初回に対し追加免疫量を多くすることが良く、1.5倍以上が好ましい。特に3倍が好ましい。

この原理はワクチンの投与でも有用である。例えばB型肝炎ワクチンの従来投与で追加免疫しても抗体価が上昇しない例がある。この場合などは従来の1回投与量の1.5倍以上追加免疫するか、初回を従来の2分の1にし、追加免疫量をその3倍にする。

【0006】

本願発明の「抗NC1モノクローナル抗体」及び「蛍光標識抗NC1モノクローナル抗体」は、前者は間接染色法で後者は直接染色法でサル抗GBM抗体腎炎やヒトIgA腎症の病理切片で糸球体基底膜を染色する。もちろんラットやマウスその他の動物種、IgA腎症以外の腎炎各種でも同様に染色する。又、本願発明の「NC1測定ELISAキット」は原発性及び、糖尿病性腎炎等の二次性腎炎の早期検出に役立つ。特に「抗GBM抗体腎炎」に対して抗NC1モノクロー抗体は、GBMに豊富に存在するNC1の損傷時に特異的に反応するので格別に高感度と成り、血清中よりも尿中のNC1も鋭敏に測定できる。

更に、「抗NC1モノクローナル抗体」を陽性標準として、IgA腎症モデルのHIGAマウスの血清及び尿の抗NC1抗体をELISA法で測定できる。他の腎炎、糖尿病、高血圧モデルなどでも糸球体腎炎を起こすものは、抗NC1抗体の測定が疾患進行の指標となる。又、感染症など他疾患モデルでも腎炎を起こす時には指標となる。

【0007】

本発明者は、腎炎の初期検出の為に、「NC1測定ELISAキット」についても下記の具体的手段を確立した。本発明は、記載の測定方法及び試薬に限定されるものではない。即ち、抗GBM抗体腎炎において生ずるNC1を患者等の尿中から検出する方法と測定試薬について血清の場合も並べて例示し、説明する。

【0008】

1 NC1を血清及び又は尿中から検出する方法と測定試薬。
試薬として、1)抗NC1抗体(ウサギ由来)をコートしたプレート、2)酵素(HRP)標識抗NC1モノクローナル抗体、3)発色基質(TMB)、4)反応停止液(硫酸)を用いて測定する。

ここで、「2)」を無標識にし、「2)－2)」として「酵素(HRP)標識抗マウスIgG抗体」を加えても良い。又、「1)」と「2)」との抗体部分を入れ替えても、両方をモノクローナル抗体にしても良い。

この時、陽性標準は、ヒト患者より入手しても良いが、発明者が見出した様に実験モデルのサルから得たものがより良い。管理されて育成され、作製するサルの方が安定した標準となり得る。更に具体的には、ヒト患者試料を一次標準とし、実際にキットに付ける二次標準はサル由来とすれば良い。

【0009】

免疫反応として、酵素免疫反応が代表的にあげられるが、それに限定されず、AB法、RIA法、免疫発光法、沈降反応、凝集反応他を含む。酵素免疫反応において酵素標識の抗体としては、ポリクローナル又はモノクローナル抗体を問わない。又それを放射性物質(RIA法)、発光物質で標識した物(免疫発光法)、無標識物(沈降法、凝集法)でも良

い。

反応形式は、サンドイッチ法に囚われず、競合法他でも良いが、特にサンドイッチ法が望ましい。測定試薬の構成として、抗NC1抗体をコートするプレートを、ガラスや磁性物質にしても良く、無しにして固相法を用いないことでも良い。

プレートに抗NC1抗体（以下抗体）をコートする時、間接コートにしコート物質をアビジン、ビオチン、又はこれらの結合した成分でも良い。

又、抗原は、生体抽出物やリコンビナントのみでなく、構成ペプチド（特定分画、合成品を含む）でも良く、抗体はこれらの抗原から作製しても良い。

測定試薬に用いる抗原の動物種としては、ヒトが望ましく、サル、ウシ、ブタ、ニワトリ、羊、ヤギ、ウサギ、ラット他の動物でも良くこれに限定されない。更に、抗原は、複数動物種を混合したものでも良い。

抗原の由来臓器は、腎臓が望ましいが、これに限定されない。

【0010】

2 抗NC1抗体を取り除く器具及び又はNC1を取り除く器具。

抗NC1抗体で作製したアフィニティークラムを用いて、血液を通すと血清中のNC1のみが除かれる。続いて、その血液をNC1で作製したアフィニティークラムに通して、血清中の抗NC1抗体を除き、抗体も抗原もとリ除かれた血液を再度体内に戻す。この原理を用いて、カニクイサルの腎炎モデル（「K35 NC1」（コラーゲン技術研修会製）で感作）で試すと、処置後の尿には、抗原も抗体も、処置前の半分以上となった。従来の方法での透析は患者血清で、透析前後にこのような差は見られない。もちろん、血液中のNC1や抗NC1抗体を除去できる器具であれば、前述器具に限定されない。又、NC1や抗NC1抗体を、 $\alpha 3$ 鎖や $\alpha 4$ 鎖及び又はその抗体に置き換えても、抗GBM抗体腎炎を誘導する $\alpha 3$ 鎖や $\alpha 4$ 鎖の抗原部位及び又はその抗体に置き換えても良い。

又、器具に用いる抗体は、ポリクローナルでもモノクローナルでも良いが、モノクローナルは半永久的に同一性能のものが得られるのでより望ましい。

本願発明の器具は、抗GBM抗体腎炎など緊急性を要する腎炎では特に有効である。

【発明の効果】

【0011】

本発明は、腎炎の早期検出、確定診断及び腎炎や癌患者の改善に有用である。

【実施例1】

【0012】

【抗原の分離精製】ウシ腎糸球体を原料として、タイプIVコラーゲンNC1領域（以下NC1）を分離し、カラムクロマトグラフィーで精製する（J. Biol. Chem., 263, 10481-8）。

【抗体の作製と選択】マウスを用いて作製する（単クローン抗体実験マニュアル、講談社刊、1987）。融合細胞のスクリーニングでは培養上清を用いてELISA法で抗体価の高い陽性穴を多数選ぶ。次にマウス腹腔内にて細胞増殖させた後、腹水を集め、ウエスタンブロットでNC1モノマーとNC1ダイマーに反応するものを選ぶ（図1）。続いてカニクイサルの正常腎臓とサル腎炎モデル（抗GBM抗体腎炎）の腎臓を用いて免疫染色を行い、サル抗GBM抗体腎炎の糸球体と反応するもので、サル正常腎と反応しないものを選ぶ（表1、図2）。

（ここで作製したカニクイサルの腎炎モデルは既に報告されている投与部位と異なり、背部皮内に初回NC1を1mg、追加免疫3mgで作製している。足裏に打つのに比べ、サルの歩行に困難を与えず、感染の可能性も低い）

抗NC1モノクローナル抗体は蛍光が未標識なので、免疫染色には間接法を用いるが、この時二次反応に用いた市販の蛍光標識抗マウス抗体（ウサギ由来、ダコウ社、No. F0232, Lot. 045、50倍希釈）が他種の免疫グロブリン（この場合サル腎糸球体に沈着するIgG）と反応すること、即ち非特異的反応が危惧される。そこで蛍光標識抗マウス抗体を直接サル抗GBM抗体腎炎の糸球体に振り掛けて試すと確かに僅かに染色する（図3）。しかし、本願発明品を用いた間接免疫染色に比べ、染色が明らかに弱い（図

3)。

更に、抗NC1ポリクローナル抗体(ウサギ由来)を作製し、サル正常腎臓と腎炎モデルの腎臓とを間接染色法で比較した。その結果、正常腎臓の方が腎炎モデルの腎臓より良く染まる(図4)。逆に、本願発明の抗NC1モノクローナル抗体は、腎炎の方に良く染まる。

よって、本願発明の抗NC1モノクローナル抗体は糸球体腎炎の識別に有用な染色試薬である。

事実、このようにして選ばれた抗NC1モノクローナル抗体は人の糸球体腎炎、例えばIgA腎症の腎凍結切片で糸球体基底膜や尿細管を染色する。

更に、この抗体の特性確認の為、タイプIVコラーゲン(ヒト胎盤由来、ペプシン処理)とNC1(ウシ腎糸球体由来、コラゲナーゼ処理)とを抗原としてウエスタンブロットでの免疫反応を見ると、NC1とは反応するがタイプIVコラーゲンとは反応しない(図5)。

ELISA法でも、ウエスタンブロット法でも、免疫染色でも使用可能な抗NC1モノクローナル抗体である。

【蛍光標識抗NC1モノクローナル抗体】

蛍光物質は、文献(「免疫研究の基礎技術」25頁、羊土社刊)より緩和な条件(0.05M炭酸緩衝液、pH8.0~9.0、室温×30分+4℃×2時間、IgG:FITC=1:4(モル比率)/MW.IgG160,000 FITC400/=10mg:0.1mg)で標識し、カラムでフリーの蛍光物質を除去する。標識後、PBS(pH7.2)に溶かし、ELISA法で未標識の抗NC1モノクローナル抗体と抗体価の比較を行い抗体の劣化が起きていない事を確認する。蛋白濃度(IgG濃度)は吸光度(A280nm)を測定して決定する。

F/P ratio=0.6~3.0のものが蛍光標識抗体としての能力を有するので、これを用い、6.0以上は、NC1との反応性が失われたので用いない。更に、モノクローナル抗体(以下モノクロ抗体)でサル抗GBM抗体腎炎の腎臓の切片を直接免疫染色法で染色を確認する。更にヒトの腎炎の病理切片で確認する。

【実施例2】

【0013】

【抗NC1抗体を取り除く器具及び又はNC1を取り除く器具】

抗NC1抗体で作製したアフィニティークラムを用いて、血液を通すと血清中のNC1のみが除かれる。続いて、その血液をNC1で作製したアフィニティークラムに通して、血清中の抗NC1抗体を除き、抗体も抗原もとり除かれた血液を再度体内に戻す。腎炎モデルのカニクイサル(雄、体重、推定年齢)から血清相当4mlの血液を採取し、これを先述の2種のアフィニティークラムを通して、再度血管に戻す。この作業を3回繰り返す。その結果、作業前後の尿中の抗体価を測定したところ、半分以下に抗体価が下がった。

【実施例3】

【0014】

【腎臓由来のタイプIVコラーゲンを抗原として作製した抗タイプIVコラーゲン抗体によるタイプIVコラーゲン測定キット】

タイプIVコラーゲンは、α1鎖よりα6鎖まで存在が知られている。由来臓器によりα鎖の構成は異なる。胎盤由来のタイプIVコラーゲンは、α1、α2が主体で、腎臓由来のタイプIVコラーゲンは胎盤由来に比べα3、α4に富んでいる。腎臓由来のタイプIVコラーゲンを得るには、ウシ腎より糸球体基底膜を取り出し定法のペプシン分解を行い抽出する。この時混入の恐れがあるNC1微細末を、別途用意した抗NC1抗体のアフィニティークラムで除去する。この操作を行う事で、純粋の腎臓由来のタイプIVコラーゲンが得られる。又、これを抗原とする事で特異性の高い抗体が得られる。

抗体値の測定；

96穴プレートに抗原(1)ウシ腎糸球体由来ペプシン可溶化タイプIVコラーゲン、2)ヒト胎盤由来ペプシン可溶化タイプIVコラーゲン)をコートし、検体100ulを

加え、室温で2時間反応後、HRP標識抗体（検体がマウス由来の時は抗マウス、ウサギの時は抗ウサギ、ヤギの時は抗ヤギの各抗体）を加え、室温で1時間反応後、TMB液を加え、室温で10分反応後、1N硫酸で反応を停止し、直ちに450nmで測定する。

検体と測定結果；

・検体／抗ヒト胎盤由来タイプI Vコラーゲンモノクロ抗体（免疫動物／マウス、3種類；1A，1B，1E）；

1）いずれもマイナス（バックグラウンドを引いている、以下同じ）

2）1A／1.826，1B／2.188，1E／2.222

・検体／抗ヒト胎盤由来タイプI Vコラーゲンポリクロ抗体（免疫動物／ウサギ、YOKO203）； 1）2.391 2）2.231

・検体／市販抗ヒト胎盤由来タイプI Vコラーゲンモノクロ抗体（免疫動物／マウス、F59）； 1）0.047 2）2.135

・検体／市販抗ヒト胎盤由来タイプI Vコラーゲンポリクロ抗体（免疫動物／ヤギ、GOT） 1）0.450 2）2.037

・抗体YOKOのみが、ウシ腎糸球体由来ペプシン可溶化タイプI Vコラーゲンとヒト胎盤由来ペプシン可溶化タイプI Vコラーゲンの両者に反応したが、それ以外は、いずれか一方のタイプI Vコラーゲンにしか反応しなかった。

結論；腎臓由来のタイプI Vコラーゲンを測定するには、腎臓由来のタイプI Vコラーゲンを抗原とする抗体で作製した試薬（ELISAキットなど）で測定する事が良い。

又、腎機能の評価に抗タイプI Vコラーゲン抗体を測定する時は、抗原には腎臓由来のタイプI Vコラーゲンをを用いて測定する事が良い。

【実施例4】

【0015】

【IgA腎症モデルのHIGAマウスでの抗NC1抗体の測定】

HIGAマウス4週令の雌3匹を購入し、飼育測定を行った。採血は1回分を、採尿は1日数回分を合わせて同一検体とした。又、血清は200倍に希釈し、尿は4倍に希釈して測定した。測定方法はELISA法による。

・6週令以降の血清では全例で、IgA抗体もIgG抗体も測定される。

・尿中では15週令でIgA抗体が、18週令でIgG抗体が検出された。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】ウエスタンブロッティングに依る抗体の選出

【図2】抗NC1モノクローナル抗体に依るカニクイサル正常腎と腎炎モデルとの染色比較（間接染色法）

【図3】抗NC1モノクローナル抗体（間接染色）と蛍光標識抗マウス抗体（ウサギ由来）（直接染色）とのサル腎炎モデルでの染色比較

【図4】抗NC1ポリクローナル抗体（ウサギ由来）に依るカニクイサル正常腎と腎炎モデルとの染色比較（間接染色法）

【図5】タイプI Vコラーゲン（ヒト胎盤由来、ペプシン処理）とNC1（ウシ腎糸球体由来、コラゲナーゼ処理）とを抗原としたウエスタンブロッティング

【表1】

染色の手順

【表 1】

抗 NC1 抗体 を用いた免疫染色

材料：

K35 誘発サル糸球体腎炎モデルの凍結腎臓組織
(OCT コンパウンドに包埋，ドライアイス・アセトンあるいは液体窒素を用いて
急速凍結， -80°C 保存)

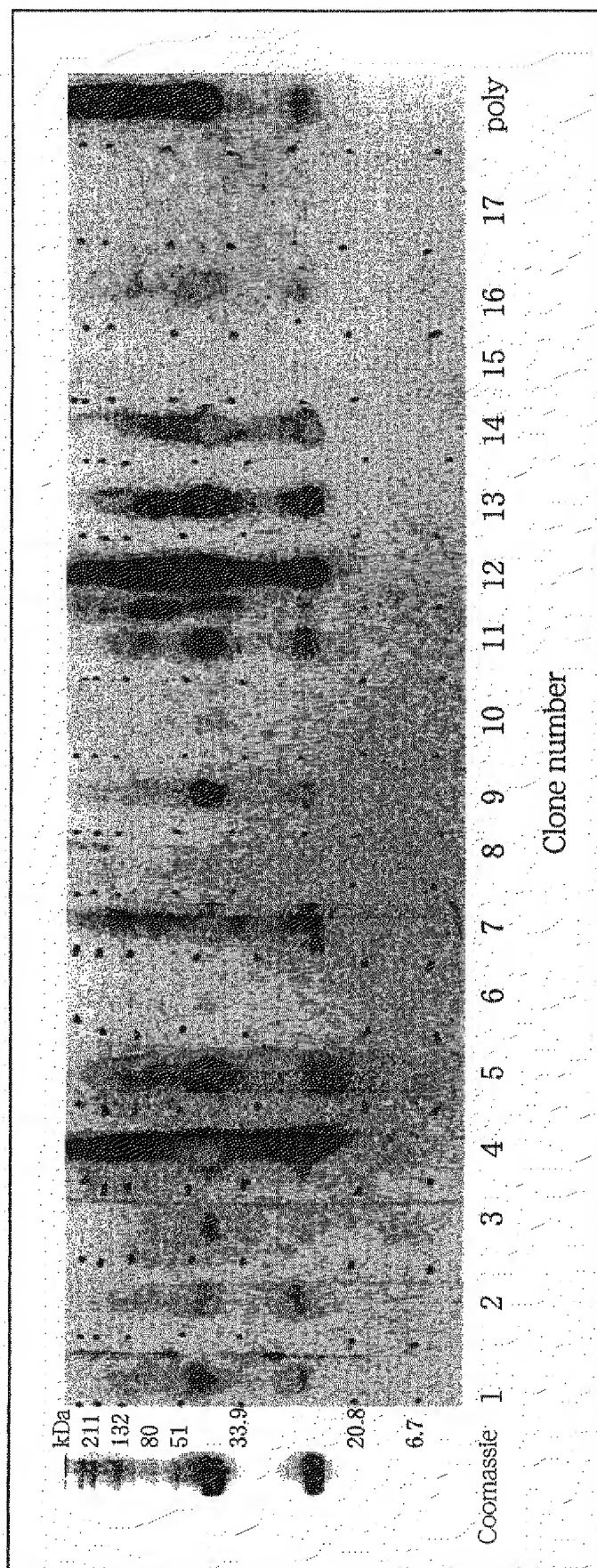
抗体：

一次抗体 マウスモノクローナス抗 NC1 抗体
(コラーゲン技術研修会)
二次抗体 FITC 標識ウサギ抗マウス免疫グロブリン
(DAKO 社, Code No. F 0232, Lot 045)

染色手順：

1. クリオスタットで凍結切片作製。
2. 風乾後，アセトンで 5 分間固定。
3. PBS (pH 7.4) で洗浄
4. 一次抗体 500 倍希釈，室温 2 時間反応
5. PBS で洗浄
6. 二次抗体 50 倍希釈 室温 1 時間反応
7. PBS 洗浄
8. グリセリンで封入。

【書類名】 図面



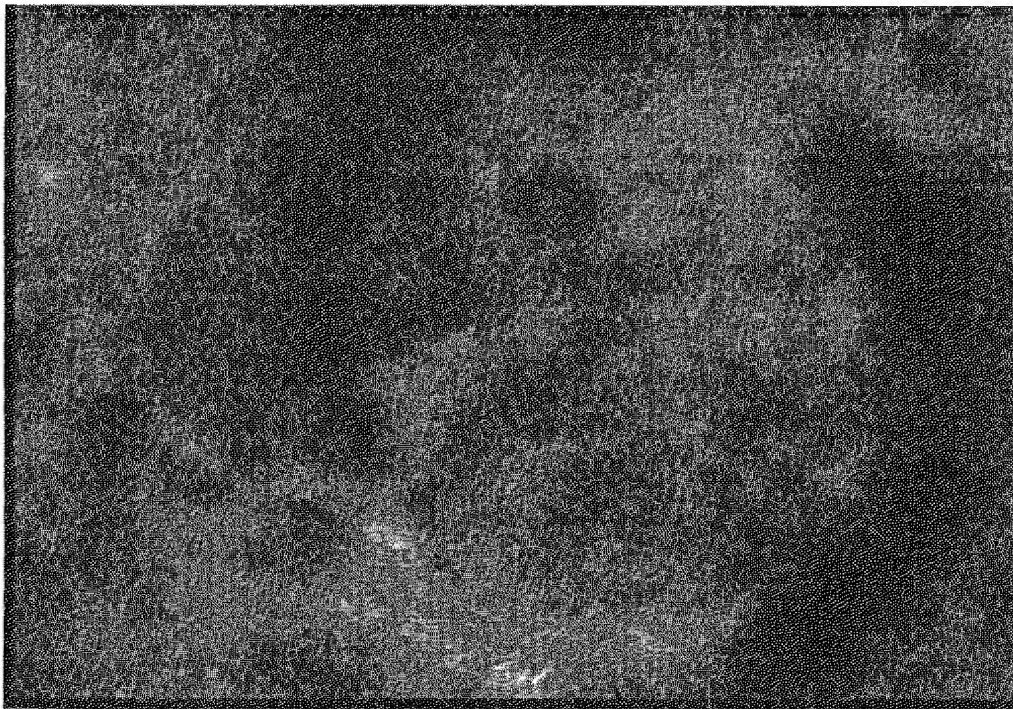


Fig.1 Control

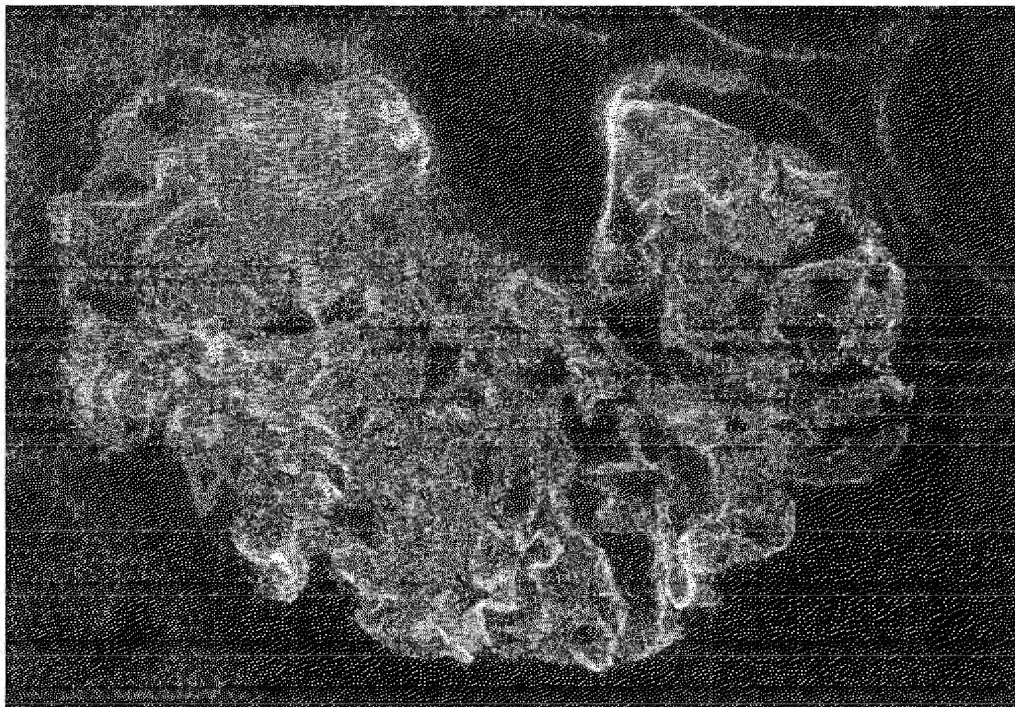
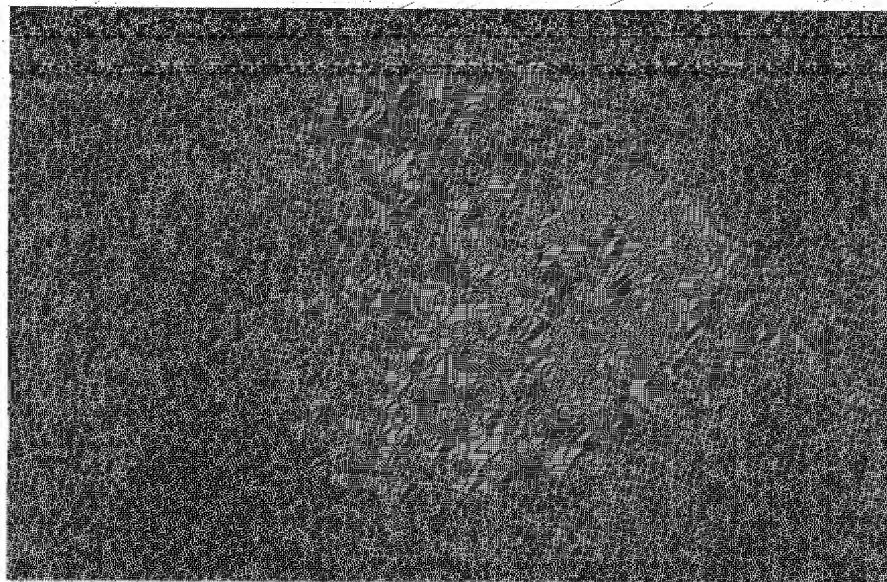
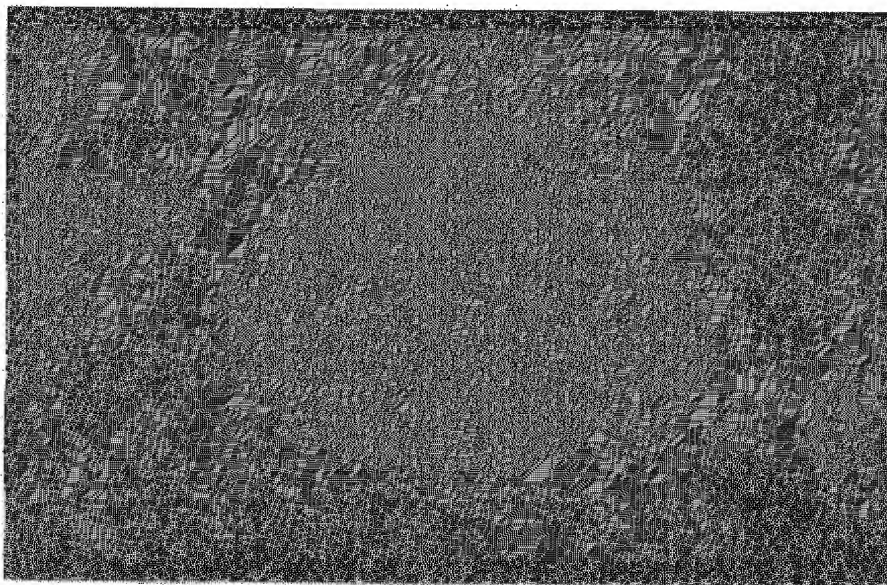


Fig.2 Anti-GBM nephritis (No.2301)

図面代用写真(カラー)

抗NC1モノクローナル抗体（間接染色）と

蛍光標識抗マウス抗体（ウサギ由来）（直接染色）



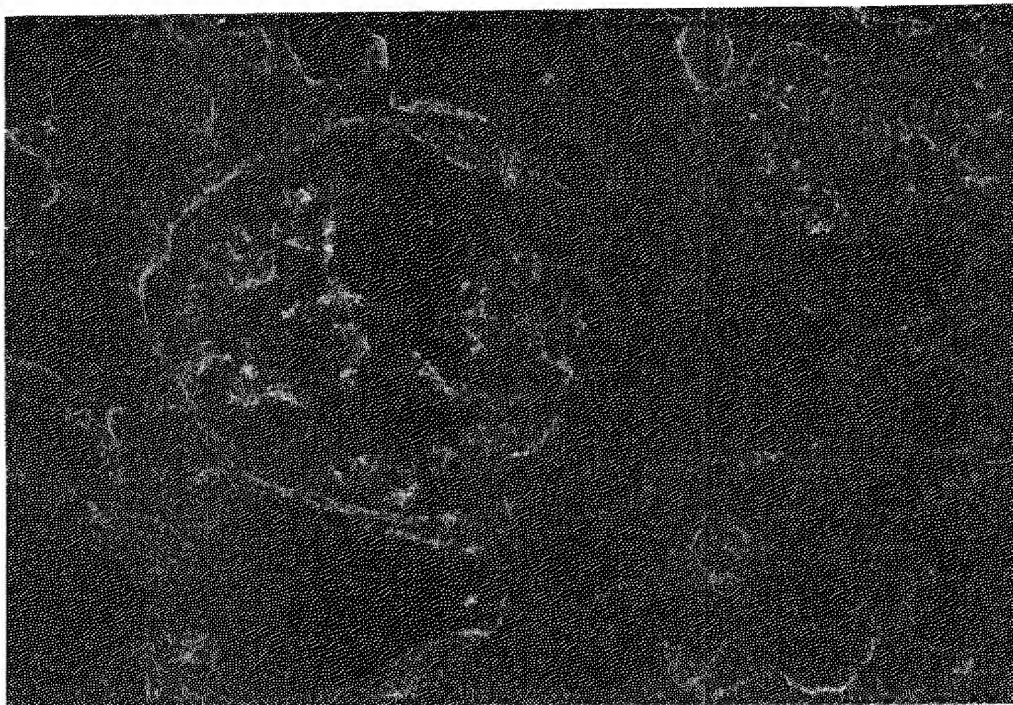


Fig.1 Control

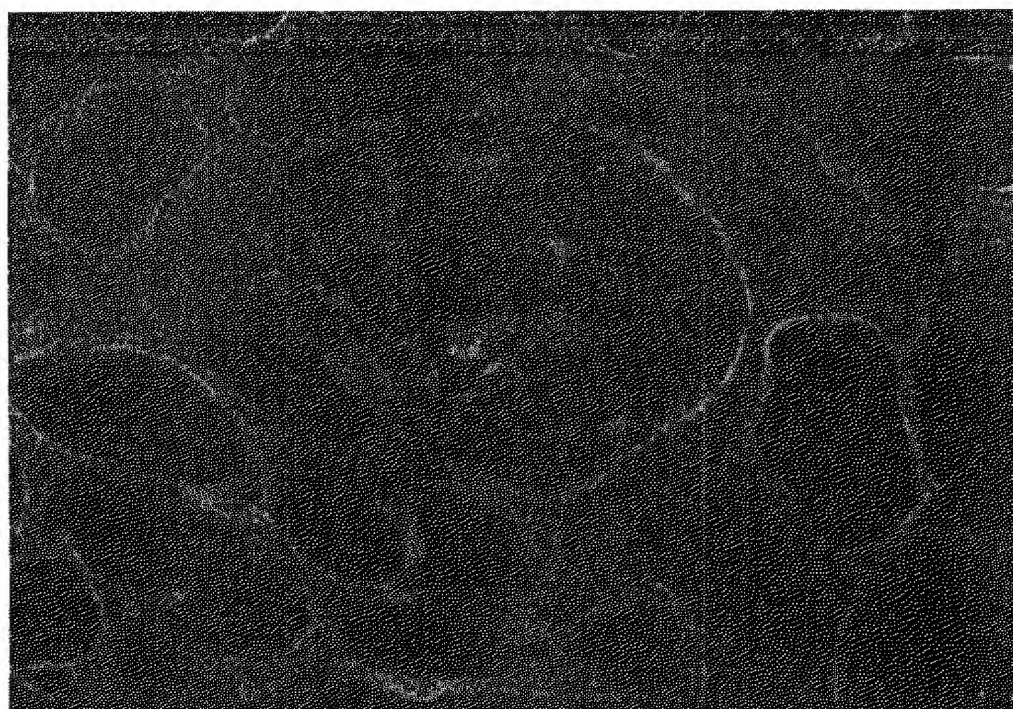
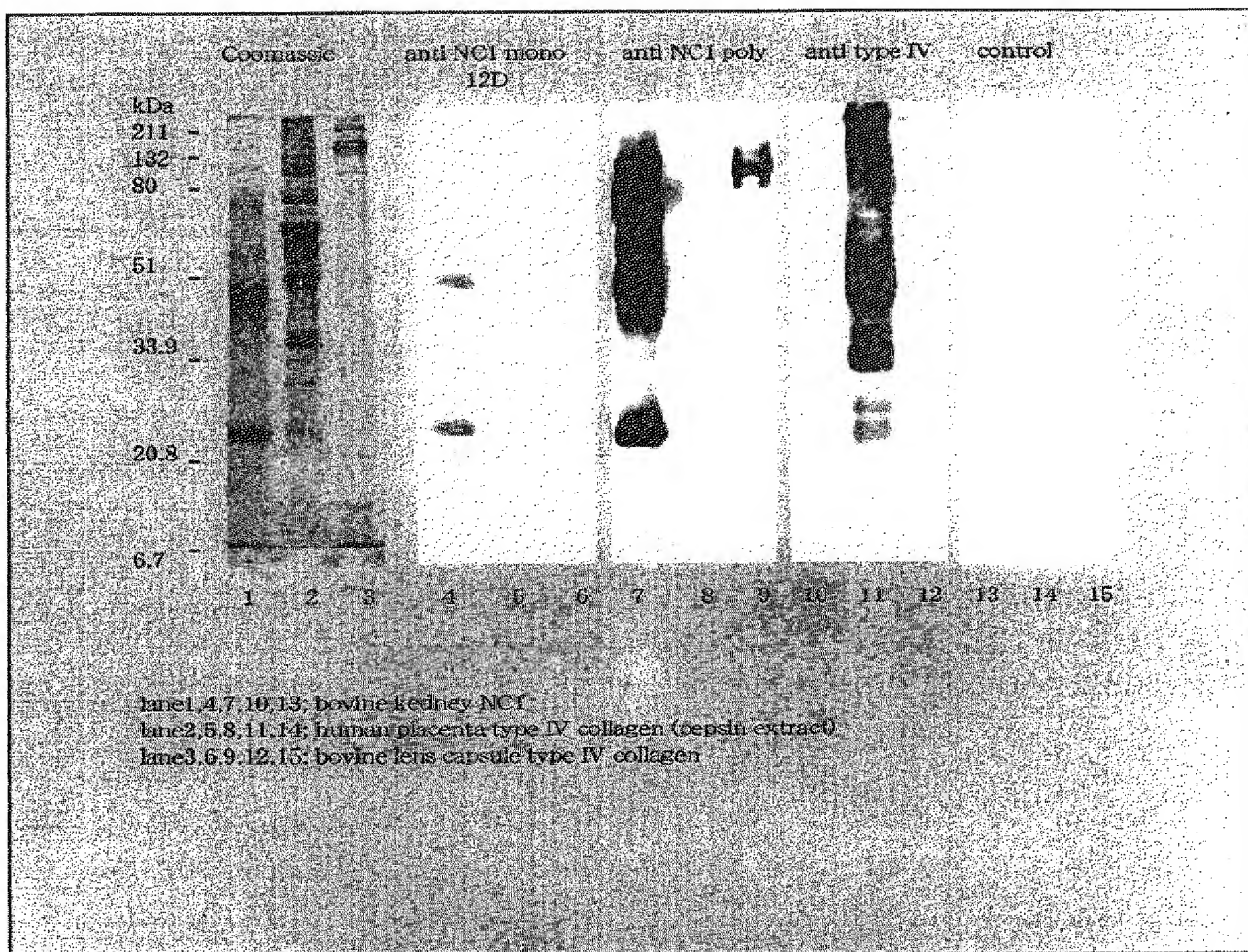


Fig.2 Anti-GBM nephritis (No.2301)



【書類名】 要約書

【要約】

【目的】 本発明は、抗N C 1モノクローナル抗体を用いて、一次性、二次性を問わず腎炎の早期を検出しようとするものである。本発明は、免疫グロブリンが腎糸球体に沈着の起きない早期の腎生検試料を免疫染色で、又尿や血清などの試料より抗原抗体反応でN C 1を見出だす事で腎機能の診断に有用な情報を与えるものである。更に治療に活用するものである。

【構成】 ヒト及び又は動物の腎糸球体中のN C 1に免疫反応をする抗N C 1モノクローナル抗体よりなる。本発明品はN C 1モノクローナル抗体を適当な緩衝液で希釈する事で、又適当な標識物を結合させる事で、患者の腎生検切片を免疫染色できるし、血清や尿を試料として、抗原抗体反応により存在するN C 1を検出できる。更に、抗N C 1抗体を用いて血清中のN C 1を、及び又は抗N C 1抗体で精製したN C 1を用いて血清中の抗N C 1抗体を除去する方法で、腎炎患者の血清浄化を行うものである。加えて、抗N C 1抗体を用いて腎臓由来のタイプI Vコラーゲンを精製し、これを抗原として、特異性のある抗腎臓由来タイプI Vコラーゲン抗体を作製する。この抗腎臓由来タイプI Vコラーゲン抗体は、尿や血清より抗原抗体反応で腎臓由来のタイプI Vコラーゲンを検出できる。

【書類名】	手続補正書
【提出日】	平成16年 5月11日
【あて先】	特許庁長官 殿
【事件の表示】	
【出願番号】	特願2004- 73468
【補正をする者】	
【識別番号】	598100346
【氏名又は名称】	横山 司甫
【発送番号】	038736
【手続補正1】	
【補正対象書類名】	特許願
【補正対象項目名】	特許出願人
【補正方法】	追加
【補正の内容】	
【その他】	本件手続をしたことに相違ありません。

出願人履歴

5 9 8 1 0 0 3 4 6

19980622

新規登録

東京都清瀬市中清戸 5 ー 7 2 ー 1 1 ー 4

横山 司甫